

بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت گاو میش های آذری با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

مهدیه یوسفی دارستانی^۱، سیدرضا میرایی آشتیانی^{۲*} و مصطفی صادقی^۳

۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۲۷)

چکیده

با توجه به اهمیت حفظ تنوع در نژادهای بومی و شناسایی ذخایر ژنتیکی کشور، تنوع ژنتیکی جمعیت گاو میش آذری با استفاده از ده نشانگر ریزماهوره ای (BoLA-DRB3, BM1818, BM1824, CSSM033, CSSM047, ILSTS017, ILSTS033, ILSTS058, ILSTS061 و ILSTS089) بررسی شد. شمار ۷۰ نمونه مو از گاو میش های آذری در سه منطقه شمال غربی کشور (استان های اردبیل، آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی) گردآوری شد. استخراج DNA ژنگانی (ژنومی) به روش استخراج نمکی تغییر یافته انجام و واکنش های زنجیره ای پلیمرز برای همه آغازگرها بهینه شد. نتایج نشان داد، در این جمعیت، همه جایگاه ها چندشکلی بالایی داشته و افزون بر این به استثنای جایگاه BoLA-DRB3، انحراف معنی داری از تعادل هاردی- واینبرگ نشان دادند ($p < 0.001$). میانگین شمار آلل های مشاهده شده و مورد انتظار به ترتیب برابر با ۵/۹۰ و ۴/۷۲ بود. افزون بر این میانگین ناخالصی (هتروزیدگوسیتی) مشاهده شده و مورد انتظار، محتوی اطلاعات چندشکلی و شاخص شانون، به ترتیب برابر با ۰/۸۷، ۰/۷۵، ۰/۷۱ و ۱/۵۷ بود. بنابراین، با توجه به این نتایج، تنوع ژنتیکی بالایی در جمعیت گاو میش آذری وجود دارد.

واژه های کلیدی: استخراج DNA از نمونه مو، اطلاعات چندشکلی، تنوع ژنتیکی، گاو میش، هتروزیدگوسیتی.

Assessment of Genetic Diversity of Azari Buffalos using Microsatellites Markers

Mahdiyeh Yousefi Darestani¹, Seyed Resa Miraei Ashtiani^{2*} and Mostafa Sadeghi³

1, 2, 3. Former M.Sc. Student, Professor and Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Feb. 2, 2014 - Accepted: Aug. 18, 2018)

ABSTRACT

Considering the importance of maintaining the diversity in native breeds and identification of genetic resources of the country, the genetic diversity in Azari buffaloes was evaluated using ten microsatellite markers (BoLA-DRB3, BM1818, BM1824, CSSM033, CSSM047, ILSTS017, ILSTS033, ILSTS058, ILSTS061 and ILSTS089). Hair samples were taken from 70 Azari buffaloes from three regions of the northwest of Iran including Ardabil, East Azerbaijan and West Azerbaijan provinces. Genomic DNA was extracted from the hair samples by the modified salting-out method and for DNA amplification the polymerase chain reactions for all primers were optimized. The results indicated that, in Azari buffalo population, all microsatellites loci were highly polymorphic, and they were deviated from Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.001$) with an exception for BoLA-DRB3 locus. The average observed and expected allelic numbers were 5.9 and 4.72, respectively. The observed and expected heterozygosity, Polymorphic Information Content (PIC) and Shannon Index were 0.87, 0.75, 0.71 and 1.57, respectively. In conclusion, the genetic variation in Azeri buffalo population is quite high and reliable.

Keywords: Azari Buffalo, hair sample, heterozygosity, polymorphic information content.

* Corresponding author E-mail: ashtiani@ut.ac.ir

مقدمه

تنوع زیستی از جمله عامل‌های مهم برای اصلاح‌گران حیوان‌های اهلی برای حفظ ذخایر ژنتیکی به شمار می‌آید (Mirhoseini *et al.*, 2005). دام‌های بومی به دلیل شدت انتخاب پایین، شمار زیاد پرورش‌دهندگان، محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی و دیگر فناوری‌های تولیدمثلی، تنوع ژنتیکی و اندازه مؤثر جمعیت بالایی دارند. وجود تنوع ژنتیکی از عامل‌هایی است که می‌تواند سبب افزایش پیشرفت ژنتیکی شده و سازگاری پذیری سریع‌تر به دنبال داشته باشد (Frankham, 1995). مدیریت مؤثر منبع‌های ژنتیکی دام بومی مستلزم داشتن اطلاعات جامع در زمینه ویژگی‌های نژادی، شامل اطلاعات مربوط به اندازه و ساختار جمعیت، پراکنش جغرافیایی، محیط پرورش و تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌ها و نژادها است (Barker, 1999). در دو دهه گذشته، نشانگرهای مولکولی به‌ویژه نشانگرهای DNA به ابزاری قابل اعتماد و مناسب برای بررسی‌های مربوط به تنوع ژنتیکی و ژنتیک جمعیت تبدیل شده‌اند (Goldstein & Pollock, 1997). در این میان ریزماهورها به سبب برتری‌های ویژه همچون چندشکلی بسیار زیاد، توزیع تصادفی در میان ژنگان (ژنوم)، همباز بودن، پایین بودن میزان تأثیر انتخاب طبیعی و مصنوعی بر آن‌ها، برای بررسی‌های ژنتیک جمعیت مناسب‌ترند (Goldstein & Schlötterer, 1999). اگرچه، در سال‌های اخیر چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs)، به دلیل در دسترس بودن آسان و ارزان‌تر شدن، در بیشتر بررسی‌های مرتبط با تنوع ژنتیکی به‌عنوان نشانگرهای مولکولی استفاده می‌شوند. از نشانگر ریزماهوره در بررسی‌های زیادی برای بررسی تنوع بین جمعیت‌ها استفاده شده است. از جمله بنا بازی و همکاران (۲۰۰۷) تنوع ژنتیکی در درون و بین ۵ جمعیت گوسفند ایرانی را با استفاده از نشانگر ریزماهوره بررسی کردند (Banabazi *et al.*, 2007).

گاو میش آذری یکی از بوم‌جور (اکوتیپ)‌های گاو میش آبی (*Bubalus bubalis*) در ایران است. این بوم‌جور با حدود ۳۴۰ هزار رأس گاو میش (۷۰ درصد کل گاو میش‌های کشور) در منطقه‌های شمال غربی

ایران پرورش داده می‌شود. بوم‌جور آذری را می‌توان بنا بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی (مورفولوژی) به سه گروه شامل گاو میش مشکی، چورا و پيله طبقه‌بندی کرد. گاو میش مشکی هیكلی متوسط دارد و از نظر شكل ظاهری همانند گاو میش‌های مدیترانه‌ای است. گاو میش چورا ۱ تا ۲ درصد بوم‌جور آذری را تشکیل می‌دهد و سنگین‌تر از دو گروه مشکی و پيله است و همانندی به گاو میش‌های خوزستان و نژادهای گاو میش‌های هندی دارد. گاو میش پيله از نظر جنه حد واسط بین دو گروه پیشین بوده و احتمال دارد از مناطق مازندران وارد آذربایجان شده باشد. گاو میش‌های آذری ذخیره‌ی بارزش و یک بخش از منبع‌های ژنتیکی گاو میش‌های ایران هستند (Saadat, Nori, 1992; Naserian & Saremi, 2010). تاکون بررسی‌های متنوعی در زمینه تنوع و توصیف ژنتیکی جمعیت‌های گاو میش با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره‌ای در ایران و سراسر جهان انجام شده (Aminafshar *et al.*, 2008; Kathiravan *et al.*, 2009;) (Ángel-Marín *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2011) اما در زمینه تنوع ژنتیکی در گاو میش آذری تحقیقات محدودی صورت گرفته است.

هدف این بررسی، برآورد تنوع ژنتیکی و تعیین ساختار ژنتیکی درون جمعیت گاو میش‌های آذری ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، که به سبب چندشکلی زیاد، توزیع تصادفی در سرتاسر ژنگان، همباز بودن و کمتر تحت تأثیر انتخاب طبیعی و مصنوعی بودن، ابزار مناسبی برای بررسی‌هایی از این دست هستند، است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA

شمار ۷۰ نمونه مو از گاو میش‌های نواحی مختلف استان‌های اردبیل و آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی گردآوری شد. در این پژوهش برای استخراج DNA ژنگانی از پیاز مو، از روش استخراج نمکی (Miller *et al.*, 1988) تغییر یافته بهینه‌شده در آزمایشگاه زیست‌فناوری (بیوتکنولوژی) گروه علوم دامی استفاده شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با

آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه، بسط آغازگر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و سرانجام بسط نهایی آغازگر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه بهینه شدند. برنامه دمایی برای آغازگرهای ILSTS017، ILSTS033 و ILSTS058 همانند آغازگرهای پیشین است با این تفاوت که برنامه زمانی در این دو آغازگر، در ۳۵ چرخه به صورت واسرشته سازی در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال مربوط به هر آغازگر به مدت ۴۵ ثانیه، بسط آغازگر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه بهینه شدند. آغازگر BM1818 در برنامه دمایی و زمانی متفاوتی نسبت به آغازگرهای دیگر به صورت واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه شامل واسرشته سازی در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، بسط آغازگر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و سرانجام بسط نهایی آغازگر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه بهینه شد. برای آشکارسازی تفاوت قطعه های DNA، فرآورده های PCR به دست آمده روی ژل پلی اکریلامید ۹ درصد الکتروفورز و نمایان سازی باندها به روش سریع رنگ آمیزی نیترات نقره (Sanguinetti & Simpson, 1994) انجام شد.

روش، طیف سنج نوری (اسپکتروفتومتری) مورد ارزیابی قرار گرفته و موارد دارای مشکل تکرار شدند.

تعیین نژادگان و جایگاه های ریزماهوره

در این تحقیق از ده جفت جایگاه ریزماهوره ای (BoLA-DRB3، BM1824، BM1818، CSSM033، CSSM047، ILSTS017، ILSTS033، ILSTS058، ILSTS061 و ILSTS089) به دلیل داشتن چندشکلی و ناخالصی (هتروزیگوسیتی) بالا در بررسی های همسان پیشین استفاده شد. افزونش DNA توسط واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با استفاده از ده جفت آغازگر ریزماهوره ای (جدول ۱) در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر حاوی ۲۰۰-۴۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۳۰ پیکومول در میکرولیتر آغازگر و غلظت ۱X Taq DNA Polymerase Master Mix (Ampliqon Red 2 X) که حاوی ۰/۲ واحد در میکرولیتر Taq پلیمرز و ۳ میلی مولار کلرید منیزیم است، با شرایط زیر انجام شد.

برنامه دمایی برای آغازگرهای BoLA-DRB3، BM1824، CSSM033، CSSM047، ILSTS061 و ILSTS089 به صورت واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۶ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه شامل واسرشته سازی در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال مربوط به هر

جدول ۱. مشخصات جایگاه های مورد مطالعه در جمعیت گاو میش های آذری

Table 1. Characteristics of microsatellite markers tested in Azari Buffalo population

Locus	Location	Accession	Size of observed alleles	Annealing Temp. (°C)	Allelic range	References
BoLA-DRB3	2	DQ187336	ATCCTCTCTCTGCAGCACATTTTCCTCGCGCTCACCTCGCCGCTG	59.5	285-380	(Moioli et al., 2001)
BM1818	23	G18391	AGCTGGGAATATAACCAAAGGAGTGCTTCAAGGTCCATGC	58	246-291	(Navani et al., 2002)
BM1824	1	G18394	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATCATTCTCCAAGTCTTCCTG	57	180-198	(Navani et al., 2002)
CSSM033	17	U03805	CACTGTGAATGCATGTGTGTGAGCCCATGATAAAGAGTGCAGATGACT	58	147-176	(Aminafshar et al., 2008)
CSSM047	8	U03821	TCTCTGTCTTATCACTATATGGCCTGGGCACCTGAAACTATCATCAT	58.5	132-161	(Aminafshar et al., 2008)
ILSTS017	X	L23491	GTCCCTAAAATCGAAATGCCGCATCTATAAACCTGTCC	59	120-137	(Navani et al., 2002)
ILSTS033	12	L37213	TATTAGAGTGGCTCAGTGCCATGCAGACAGTTTTAGAGGG	57	144-168	(Navani et al., 2002)
ILSTS058	17	L37225	GCCTTACTACCATTTCCAGCATCCTGACTTTGGCTGTGG	58	115-150	(Navani et al., 2002)
ILSTS061	15	L37267	AAATTATAGGGGCCATACGGTGGCTACCCTACCATTTC	57	142-181	(Navani et al., 2002)
ILSTS089	5	L37239	AATCCGTGGACTGAGGAGCAAGGAACCTTCAACCTGAGG	58	117-133	(Navani et al., 2002)

تجزیه و تحلیل آماری

شمار آل‌های مشاهده شده هر جایگاه (N_a)، شمار آل‌های مؤثر (N_e)، ناخالصی مشاهده شده (H_o)، ناخالصی مورد انتظار (H_e)، شاخص اطلاعات شانون (I) و محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) در جدول ۲ نشان داده شده است.

در این پژوهش بیشترین شمار آل در جایگاه ژنی ILSTS061 (۹ آل) و کمترین شمار آل در جایگاه ژنی BoLA-DRB3 (۴ آل) مشاهده شد. میانگین شمار آل‌های مشاهده شده ۵/۹۰ بود که نشان داد، جمعیت مورد بررسی تنوع آلی بالایی دارد. همچنین بیشترین (۷/۲۹) و کمترین (۱/۷۳) شمار آل مؤثر به ترتیب مربوط به جایگاه‌های ژنی ILSTS061 و BoLA-DRB3 بود و میانگین آل مؤثر در جمعیت ۴/۷۲ محاسبه شد.

Navani *et al.* (2002)، شمار ۱۰۸ جفت آغازگر (پرایمر) گاو را در ۲۵ گاو میش رودخانه‌ای بررسی کردند که بالاترین شمار آل‌های مشاهده شده در جایگاه ILSTS061 با ۱۱ آل گزارش شد. شمار آل‌های مشاهده شده و مؤثر در این بررسی بالاتر از بررسی انجام شده توسط Kathiravan *et al.* (2009) روی جمعیت Marathwada هند (۴/۴۸ و ۲/۹۳) بود. نتایج این پژوهش نشان داد، همه جایگاه‌های ژنی به‌استثنای جایگاه BoLA-DRB3، از تعادل هاردی-واینبرگ انحراف دارند ($P < 0.001$). خروج از تعادل هاردی-واینبرگ می‌تواند به دلیل افزایش ناخالصیها نسبت به ناخالصیها در جمعیت باشد.

تعیین اندازه نوار (باند)ها با استفاده از نرم‌افزار Analyzer Gel-Pro نسخه ۳/۱ (Inc, 1998) به کمک نشانگرهای اندازه انجام شد و پس از آن بر پایه اندازه‌های به‌دست‌آمده، اطلاعات مربوط به هر نشانگر و شمار آل‌های قابل تشخیص، شمار آل‌های مربوط به هر نشانگر به دست آمد و نژادگان (ژنوتیپ) هر فرد بر پایه آل‌های مشاهده شده در آن فرد تعیین شد. آزمون تعادل هاردی-واینبرگ جمعیت مورد بررسی با استفاده از آزمون مربع کای انجام شد. احتمال برقراری تعادل هاردی-واینبرگ و همچنین محاسبه شمار آل‌ها در هر جایگاه، شمار آل‌های مؤثر، ناخالصی مشاهده شده، ناخالصی مورد انتظار و شاخص اطلاعات شانون با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx نسخه ۶ (Peakall & Smouse, 2006) برآورد شد. ارزش محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) از نرم‌افزار Het نسخه ۱/۸ (Ott, 1988) برآورد شد.

نتایج و بحث

نتایج طیف‌سنجی با استفاده از روش طیف‌سنج نوری نشان داد، DNAهای ژنگانی استخراج شده کمیت و کیفیت بالایی داشتند. DNAهای استخراج شده با غلظت ۳۰۰-۴۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر برای انجام PCR انتخاب شدند. نتایج به‌دست‌آمده از چرخه‌های حرارتی PCR نشان داد، همه جایگاه‌ها به‌خوبی افزونش یافته‌اند.

جدول ۲. پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت گاو میش‌های آذری

Table 2. Parameters of genetic variation in Azari buffalo population

Locus	N_a^*	N_e^*	H_o^*	H_e^*	I^*	PIC*
BoLA-DRB3	4.00	1.73	0.51	0.42	0.83	0.40
BM1818	6.00	5.48	0.98	0.82	1.75	0.79
BM1824	5.00	4.40	0.97	0.77	1.54	0.74
CSSM033	5.00	2.33	1.00	0.57	0.97	0.48
CSSM047	7.00	5.34	0.68	0.81	1.77	0.78
ILSTS017	5.00	4.39	0.97	0.77	1.54	0.73
ILSTS033	5.00	4.84	0.87	0.79	1.59	0.76
ILSTS058	7.00	5.63	0.99	0.82	1.83	0.80
ILSTS061	9.00	7.29	0.77	0.86	2.08	0.85
ILSTS089	6.00	5.68	0.97	0.83	1.78	0.81
Mean	5.90	4.72	0.87	0.75	1.57	0.71

*: N_a : تعداد آل‌های مشاهده شده هر جایگاه، N_e : تعداد آل‌های مؤثر، H_o : هتروزایگوسیتی مشاهده شده، H_e : هتروزایگوسیتی مورد انتظار، I :

شاخص اطلاعات شانون و PIC: محتوی اطلاعات چندشکلی.

*: N_a : Observed number of alleles, N_e : Effective number of alleles, H_o : Observed heterozygosity, H_e : Expected heterozygosity, I : Shannon's Information index, PIC: Polymorphic Information Content.

جایگاه ILSTS061 در جمعیت گاومیش Kanara هند (Kathiravan *et al.*, 2008) کمتر از ناخالصی مورد انتظار در این تحقیق بود.

بیشترین مقدار شاخص شانون مربوط به جایگاه ILSTS061 (۲/۰۶) است که با توجه به آل زیاد این جایگاه منطقی به نظر می‌رسد و کمترین مقدار شاخص شانون مربوط به جایگاه BoLA-DRB3 (۰/۸۳) بود (جدول ۲). شاخص اطلاعات شانون معیار مناسبی برای ارزیابی چندشکلی و میزان تغییرپذیری جایگاه‌های مورد بررسی در جمعیت است. این شاخص برای مقایسه تنوع موجود در ترکیب جمعیت- نشانگر مناسب‌تر از ناخالصی است (Hedrick, 2011).

در این بررسی کمترین میزان شاخص PIC مربوط به جایگاه BoLA-DRB3 (۰/۴۰) و بیشترین میزان مربوط به جایگاه ILSTS061 (۰/۸۵) با میانگین ۰/۷۱ به‌دست آمد. مقادیر جدول ۲ نشان می‌دهند، جایگاه‌های ریزماهوره‌ای با ناخالصی بالا، PIC بالایی نیز دارند و همین‌طور مقادیر PIC از مقادیر ناخالصی متناظرشان کمتر است، در نتیجه این دو فراسنجه با هم رابطه مستقیم دارند. میانگین PIC در این پژوهش بالاتر از نتایج به‌دست‌آمده از بررسی‌های دیگر در جمعیت گاومیش‌های گیلان (۰/۶۱) (Aminafshar *et al.*, 2008)، جمعیت گاومیش‌های Marathwada هند (۰/۶۶۰) (Kathiravan *et al.*, 2009) و جمعیت گاومیش‌های کلمبیایی (۰/۶۶) (Ángel-Marín *et al.*, 2010) بود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش، تنوع ژنتیکی مناسبی را در جمعیت گاومیش‌های آذری نشان می‌دهد که به‌احتمال قوی مهم‌ترین دلایل آن نظام پرورش و آمیزش تصادفی است. از سوی دیگر این تنوع جمعیت در گاومیش‌های آذری که حدود ۷۰ درصد جمعیت گاومیش‌های کشور را در بر می‌گیرند و بیشترین اندازه جمعیت در کل کشور را دارند، نعمتی است که قدردانی از آن برنامه‌ریزی برای استفاده مناسب از تنوع ژنتیکی بالا در این جمعیت ارزشمند است. با مقایسه ناخالصی مشاهده‌شده و مورد انتظار در جمعیت‌های

هتروزگوسیتی از رایج‌ترین معیارهای بررسی تنوع ژنتیکی در یک جمعیت است. برای ارزیابی تنوع آلی مقادیر ناخالصی مشاهده‌شده (H_o)، ناخالصی مورد انتظار (H_e) بررسی شد که نتایج در جدول ۲ ارائه شده است. بنا بر نتایج این جدول در ۷ مورد از ۹ مورد که جایگاه‌های ژنی مورد بررسی، ناخالصی مشاهده‌شده بیشتر از ناخالصی مورد انتظار بود. در این پژوهش میانگین ناخالصی مشاهده‌شده در دامنه ۰/۵۱ برای جایگاه BoLA-DRB3 تا ۱/۰۰ برای جایگاه CSSM033 با میانگین کل ۰/۸۷ برآورد شد. میانگین ناخالصی مورد انتظار در دامنه ۰/۴۲ برای جایگاه BoLA-DRB3 تا ۰/۸۶ برای جایگاه ILSTS061 با میانگین کل ۰/۷۵ به‌دست آمد، که نشان‌دهنده سطح بالای ناخالصی در کل جمعیت گاومیش آذری است. میانگین ناخالصی مورد انتظار در این پژوهش بالاتر از نتایج به‌دست‌آمده از بررسی‌های صورت گرفته در جمعیت گاومیش‌های رودخانه‌ای در هند (۰/۶۶۰) (Navani *et al.*, 2002)، جمعیت گاومیش‌های بومی چین (۰/۴۰۰) (Yang *et al.*, 2011) و جمعیت گاومیش‌های گیلان (۰/۶۷) (Aminafshar *et al.*, 2008) بود.

با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که در جایگاه‌های ILSTS061 و CSSM047 میزان ناخالصی مشاهده‌شده کمتر از میزان ناخالصی مورد انتظار است که ممکن است ناشی از آمیزش‌های غیر تصادفی، کوچک بودن جمعیت، واریانس نمونه‌گیری، رانش تصادفی ژنتیکی و نزدیک بودن این جایگاه‌ها به جایگاه‌هایی که با صفات مطلوب اقتصادی (انتخاب مصنوعی) یا صفات مرتبط با سازگاری (انتخاب طبیعی) و در نتیجه عدم تعادل پیوستگی بین آن‌ها باشد که این عامل‌ها باعث افزایش همخونی و کاهش ناخالصی مشاهده‌شده می‌شود و همچنین علت این امر می‌تواند به نزدیکی این جایگاه‌ها به جایگاه‌هایی که با صفات اقتصادی مطلوب (انتخاب مصنوعی) یا صفات مرتبط با سازگاری (انتخاب طبیعی) و در نتیجه نبود تعادل پیوستگی بین آن‌ها باشد. میزان ناخالصی مشاهده‌شده برای جایگاه CSSM047 در جمعیت‌های گاومیش شمال هند (Arora *et al.*, 2004) و برای

سپاسگزاری

از مسئولان، پژوهشگران و کارشناسان شرکت دانشگاهی توسعه کشت و دام نواندیش البرز، مرکز اصلاح نژاد دام و بهبود تولیدات دامی کشور و مسئولان گروه علوم دامی دانشگاه تهران و آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم دامی به‌خاطر تأمین اعتبارات و امکانات اجرایی و فراهم کردن شرایط نمونه‌گیری، تشکر و قدردانی می‌گردد.

گاو میش آذری، فزونی ناخالصی در این جمعیت‌ها مشاهده می‌شود و امروزه شرایط مطلوبی از نظر تنوع ژنتیکی در گاو میش‌های آذری وجود دارد ولی باید این تنوع را حفظ کرد و می‌توان جمعیت‌های گاو میش آذری را به‌عنوان یک ذخیره ژنتیکی مناسب برای هدف‌های مختلف پرورشی و اصلاح نژادی در کشور به‌شمار آورد.

REFERENCES

1. Aminafshar, M., Amirinia, C. & Torshizi, R.V. (2008). Genetic diversity in buffalo population of guilan using microsatellite markers. *J Anim Vet Adv*, 7, 1499-502.
2. Ángel-Marín, P.A., Cardona, H., Moreno-Ochoa, M. & Cerón-Muñoz, M.F. (2010). Analysis of genetic diversity in Colombian buffalo herds. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23, 411-21.
3. Arora, R., Lakhchaura, B., Prasad, R., Tantia, M. & Vijh, R. (2004). Genetic diversity analysis of two buffalo populations of northern India using microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121, 111-8.
4. Banabazi, M.H., Esmailkhanian, S., Miraei Ashtiani, S. R. & Moradi-Shahrbabak, M. (2007). Genetic variation within and between five Iranian sheep populations using microsatellite markers. *Journal of Science and Technology in Agriculture and Natural Resources*, 10(4), 481-488.
5. Barker, J. (1999). Conservation of livestock breed diversity. *Animal Genetic Resources Information*, 25, 33-44.
6. Frankham, R. (1995). Conservation genetics. *Annual review of genetics*, 29, 305-27.
7. Goldstein, D. & Pollock, D. (1997) Launching Microsatellites: A Review of Mutation Processes and Methods of Phylogenetic Inference. *The Journal of Heredity*, 199788(5).
8. Goldstein, D. B. & Schlötterer, C. (1999). Microsatellites: Evolution and Applications. *Heredity*, 83, 633-634.
9. Hedrick, P.W. (2011). *Genetics of populations* (4th ed). Jones & Bartlett Publishers.
10. Inc M.C. GEL-Pro Analyzer software. Version 3.1. [computer software]. (1998). Silver Spring, MD, USA.
11. Kathiravan, P., Mishra, B., Kataria, R. & Sadana, D. (2009). Evaluation of genetic architecture and mutation drift equilibrium of Marathwada buffalo population in Central India. *Livestock Science*, 121, 288-93.
12. Kathiravan, P., Sadana, D., Mishra, B., Kataria, R., Kaur, P., Kumar, A. & Jayaprakash, N. (2008). Survey and characterization of South Kanara buffaloes in India. *Animal Genetic Resources Information*, 43, 67-77.
13. Miller, S., Dykes, D. & Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16, 1215.
14. Mirhoseinie, S. Z., Vahidie, S. M. F. & Gharehyazie, B. (2005). Survey of efficiency of six microsatellite loci in Iranian indigenous cattle and buffalo populations. *Iranian Journal of Biotechnology* 3.
15. Moioli, B., Georgoudis, A., Napolitano, F., Catillo, G., Giubilei, E., Ligda, C. & Hassanane, M. (2001). Genetic diversity between Italian, Greek and Egyptian buffalo populations. *Livestock Production Science*, 70, 203-11.
16. Naserian, A. A. & Saremi, B. (2010). Water buffalo industry in Iran. *Italian Journal of Animal Science*, 6, 1404-5.
17. Navani, N., Jain, P., Gupta, S., Sisodia, B. & Kumar, S. (2002). A set of cattle microsatellite DNA markers for genome analysis of riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal genetics*, 33, 149-54.
18. Ott J. (1988-2001). Program Het version 1.8. Utility programs for analysis of genetic linkage. Rockefeller University. New York, NY, USA.
19. Peakall, R. & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-95.
20. Saadat Nori, M. (1992). Breeding dairy livestock "goat and buffalo". *Ashrafi Publications*. (in Farsi)
21. Sanguinetti, C. & Simpson, A. (1994). Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 17, 914-21.
22. Yang, W., Tang, K., Mei, J., Zeng, W. & Yang, L. (2011). Genetic diversity analysis of an indigenous Chinese buffalo breed and hybrids based on microsatellite data. *Genetics and molecular research, GMR* 10, 3421.